

6. 寄生動物部

部長 遠藤卓郎

概要

寄生動物部における研究活動は専門性と継続性の重視と社会還元を基調とし、原虫・蠕虫類に係る疫学、生理学、生化学、分子生物学ならびに、これらに起因する疾病の予防と診断に関する研究を行っている。研究事業としては、所内関連部の協力を得つつ「食生活と環境の変化に伴う寄生虫・原虫症の対策と監視強化に関する研究」を継続している。

本年度に当該研究部で研究対象とした寄生虫類はミクロスポリジア、孢子虫類、ジアルジア、病原性を有する自由生活性アメーバ類、赤痢アメーバ、マラリア等の原虫類、および、住血吸虫、多包条虫、アライグマ回虫、広東住血線虫、肺吸虫、アニサキス等々の蠕虫類で、寄生虫症の多様化傾向が続いている。一方、研究手法は他の研究分野と同様に遺伝子関連技術が積極活用されており、これに加えてプロテオーム研究への萌芽的な取り組みも始まった。

エキノコックス対策として「動物由来寄生虫症の流行地拡大防止対策に関する研究」が継続実施されており、転居等により北海道から他都府県への移動犬を対象とした感染実態調査を実施している。あわせて、エキノコックスの検査法の評価、ならびに改良・開発を行っている。また、アライグマ回虫の汚染予防に向けて動物展示施設および野生アライグマの検査を継続している。さらに、親水施設を介した感染事故を防ぐ視点から首都圏の河川での寄生虫調査を行い、大平肺吸虫に寄生した汽水産カニを多数検出している。本年は第1中間宿主が確認され、河川敷で生活環が完結していることが明らかとなった。また、ここ数年エスニック料理を介したと推測される肺吸虫症の患者がアジア系在日外国人に多くみられ、邦人への広がりが増加している。アニサキス症はわが国に固有のものではないが、患者数が多いことでよく知られる。アニサキス感染に伴うアレルギーの病態はヨーロッパとわが国とで著しく異なっており、この違いの解明に向け

て起因アニサキスの遺伝的背景の解析を始めた。わが国における赤痢アメーバ症の届け出患者数は年間およそ500例におよび、暫増傾向を示している。しかしながら、病原種 *E. histolytica* と形態的同種である *E. dispar* (非病原種) との区別がされておらず、真の赤痢アメーバ症の実態は不明である。当該部では分別診断に向けた支援体制を整備し、その普及に努めている。併せて、赤痢アメーバの創薬研究、病原性解明の一環として膜輸送に係る分子機能の解析が進められた。ミクロスポリジア研究では *E. cuniculi* の胞子に係る網羅的な蛋白解析によりこれまでに9種の抗原蛋白が同定された。また、自己開発の遺伝子診断によりわが国で初めてリスザルから *E. cuniculi* の検出に成功した。水道水におけるクリプトスポリジウム等による汚染問題は頻繁な水の再利用と水の再生循環に要する時間の短縮が基本要因で、今後とも水系汚染リスクの増大が懸念される。これら原虫類による汚染防止策の一環として紫外線照射による不活化を検討しているが、今回はサイクロスポラの不活化に要する紫外線量を決定した。また、クリプトスポリジウム/ジアルジアの特異遺伝子解析と遺伝子情報の拡充に努めている。自由生活性アメーバはレジオネラの宿主として注目される一方でそれ自体の病原性が問題となる。わが国の入浴施設等におけるアメーバ汚染の実態調査と分離株の病原性についての一連の研究(厚生科研)から、日本各地で *Naegleria australiensis*, *N. philippinensis* の棲息が確認され、マウスに対する病原性が実証された。また、わが国のアメーバ性髄膜脳炎6症例を再検討し、その多くが *Balamuthia mandrillaris* に起因したものであったことを確認した。*Balamuthia* に関しては環境中での生息場所や感染経路が不明で、検出方法についても今後の研究に待たれる。

本年度は2005年1月に外来寄生動物室長の野崎智義が群馬大学に転出した。後任人事の結果、17年度初旬に新任者の配属が予定されている。現在は職員定員数10

名(欠員1名)これに研究臨時職員4名、客員研究員1名、協力研究員および流動研究員21名、実習生2名の協力を得て運営されている。

業績

調査・研究

疫学

1. サル類における播種性 *Encephalitozoon cuniculi* 感染の血清疫学的解析

播種性 *Encephalitozoon cuniculi* 感染の動物飼育コロニー内流行状況を推定する方法として ELISA 法による孢子抽出抗原に対する IgG 抗体の平均 ELISA + 3SD 値の測定が血清疫学的指標として有用である。今回はニホンザルにおける *E. cuniculi* 感染の血清疫学的解析のため、1989 - 1999 年採取の 46 血清検体と 2004 年採取の 45 血清検体を用いて、孢子抽出抗原 ELISA 法による IgG 抗体の測定を行った。1989 - 1999 年採取検体の平均 ELISA+3SD 値は 0.043 + 0.12、2004 年採取検体では 0.012 + 0.084 と非常に低い値が得られ、検体別でも有意に高い ELISA 値を示す個体は認められなかった。同血清検体を用いた Western Blot 解析、全孢子抗原を用いた酵素抗体法でも有意に高い IgG 抗体が認められなかったことから、今回研究対象にしたニホンザルは血清疫学的に *Encephalitozoon* 非流行のコロニー群であったことが示唆される。

[古屋宏二、朝倉登喜子、松林伸子(京都大学霊長類研究所)、松林清明(京都大学霊長類研究所)]

2. インドにおける腸管寄生性原虫クリプトスポリジウムの分離と遺伝子診断に関するトライアル実験

インドの国立コレラ・腸管感染症研究所が採取し、現地の方法(Kinyoun 染色法)で *Cryptosporidium* オーストが検出された下痢便2検体、不検出であったが感染が疑われた下痢便2検体について、蔗糖密度遠心浮遊法による光顕観察、*Cryptosporidium* 特異モノクローナル抗体を用いた免疫蛍光染色法、抽出 DNA を使った COWP 遺伝子領域に対する nested DNA 法を行った。その結果、光顕観察検出法で検体4例中3検体、共焦点走査型レーザー顕微鏡による免疫抗体染色検出法で僅少なながらも全例を陽性と判定したが、抽出 DNA による PCR 陽

性例は認められなかった。今後、低濃度のオーストからの特異 DNA の抽出法の改善・工夫など高感度な遺伝子診断のための更なる検討を必要とすると考えられた。

[Seuli Saha Roy(インド国立コレラ・腸管感染症研究所)、古屋宏二、Pradeep Das(インド国立コレラ・腸管感染症研究所)]

3. 本邦初の水泳プールを介したクリプトスポリジウム集団発生事例

2004 年 8 月下旬、長野県においてクリプトスポリジウム集団感染が発生した。当初、水道水等を介した水系感染が疑われたが患者発生状況等から水道水との関連性は否定された。患者の行動等に関する疫学的調査の結果、合宿で県外より集まっていた学生、小学生児童らの利用していたプールおよび洗面所流しが感染源と推定された。感染源の特定に向けて分子疫学的調査が行われた結果、患者の検便、感染源と疑われた環境試料からの分離株はすべて同一の遺伝子型(*C. parvum* ヒト型)であることが確認された。本事例は国内初の水泳プールを介した集団感染事例であり、今後リクリエーション水の衛生管理の重要性が指摘された。

[八木田健司、泉山信司、長野県北信保健所、千葉県衛生研究所、千葉市環境保健研究所、埼玉県衛生研究所、さいたま市保健所]

4. 温泉・公衆浴場、その他の温水環境におけるアメーバ性髄膜脳炎の病原体の疫学と病原性発現に関する研究

温水を棲息場所とする *Naegleria fowleri*、*Acanthamoeba spp.* および *Balamuthia mandrillaris* 等の髄膜脳炎の起因アメーバ類を対象とした汚染実態調査、検査・診断法の普及・開発を企図し、併せて本症の病理学的な検討を行った。併せて、協力地方衛生研究所にアメーバの分離・解析技術の普及が図られた。

(1) 汚染実態と汚染回避

本事業では疫学調査として、全国 14 地域の地衛研の協力を得て各地域の温水利用施設から水試料を採取し、アメーバの分離・同定を進め、汚染実態の把握に努めた。温泉浴用水及びその排水などの温水環境から高率にアメーバが検出され、その中でネグレリア属アメーバは優占

寄生動物部

種の1つであることが示された。ネグレリア属アメーバの簡易分類法の開発とそれを用いた解析により、日本各地に病原性を有することが知られる *N. australiensis*、*N. philippinensis* の棲息が確認され、マウスに対する致死的な障害性が実証された。これまでのところ、これらのアメーバは体表の傷口や経鼻感染の証拠は無いが、入浴者への不測の感染事故を回避する上で汚染防止は必須である。この件に関しては、浴用水におけるアメーバ汚染防止にかかる衛生管理として塩素消毒が有効であることが当該研究によって確認され、有効遊離残留塩素濃度は0.2mg/L以上であることも示された。本研究事業を通じて協力地方衛生研究所にアメーバの分離・解析技術が導入された。

[八木田健司、泉山信司、下河原理江子、小村麻子]

(2) わが国におけるアメーバ性髄膜脳炎の起因アメーバの同定

わが国ではアメーバ性髄膜脳炎の報告例は稀で、その実態は不明な点が多い。本研究ではわが国で報告されたアメーバ性髄膜脳炎の剖検例につき病理学的に再検討を行い、各アメーバによる髄膜脳炎の臨床的特徴および、組織所見・病変分布等々の病理組織学的特徴について比較検討した。また、特異蛍光抗体法によりわが国のアメーバ性髄膜脳炎6例全例の起因アメーバ種を特定した。すなわち、わが国には *N. fowleri* および *Acanthamoeba* sp. による脳炎患者が各1名、他の4例は全て *B. mandrillaris* に起因することが証明された。さらに、マウスを用いた感染実験により髄膜脳炎の初期像を検討し、病態発症メカニズムについて明らかにすると共に、ヒト剖検脳の病理組織像との比較をすることができた。*Balamuthia* は症例が最も多いにもかかわらず、環境中でのアメーバの生息場所、感染経路、検出方法等々について不明で、今後の調査・研究に待たれる。

[八木田健司、泉山信司、高橋 均(新潟大学脳研究所)、林森太郎(新潟大学脳研究所)]

(3) 宿主アメーバで増殖するレジオネラ属菌の定量

レジオネラ感染における宿主アメーバの重要性を明らかにするために、宿主細胞内で増殖しうる菌数を定量した。宿主アメーバに *Acanthamoeba*、レジオネラ属菌

に *L.pneumophila*/SG1 を用い、感染後、菌が細胞内にて活発に運動するアメーバをマイクロマニピュレーション法で単離し、アメーバを崩壊後、BCYE 培地を用いて菌数を定量した。その結果、1個の宿主細胞あたりの培養可能な菌数はおよそ1,200と算定され、エアロゾルを用いた動物実験より算定されている感染成立濃度に近い菌数が1個の宿主アメーバ内に存在し得ることが明らかとなった。

[八木田健司、下河原理江子、泉山信司]

(4) 温水環境分離菌の宿主アメーバに対する増殖阻害性

バイオフィルムの構成菌種がレジオネラの宿主アメーバの生態に影響を及ぼす可能性を明らかにするために、自由生活性アメーバ4株 (*Acanthamoeba* sp.、*Naegleria lovaniensis*、*Hartmannella* sp.ならびに *Platyamoeba* sp.) を用いて、温水環境より分離した従属栄養細菌9株 および対照としての大腸菌 DH1 株を餌としたときの増殖性を調べた。その結果、調べた9株の細菌中1株がすべてのアメーバに対し阻害的作用を示した。その他5菌種がアメーバ株によって増殖性に比較的大きな差がみられ、他の3菌種ではアメーバ増殖性に差がみられなかった。バイオフィルム中のアメーバの存在に、共存する菌の種・株が影響することが示唆された。

[下河原理江子、八木田健司、黒木俊郎(神奈川県衛研)、泉山信司]

(5) 環境分離アメーバ株の凍結保存法の改良

アメーバの疫学調査において得られた環境分離株に関して、Virulence の維持やクローンの保持のために凍結保存法の検討を試みた。Glycerol 溶液を用いた凍結保存は、6ヵ月以上の保存期間後において継代が可能であることを確認した。併せて、操作の簡略化を目指し、DMSO 溶液を用いた凍結保存方法を確立した。寒天培地培養から直接保存する場合は、10%DMSO、10% serum、大腸菌(熱変性済みのも)を加えた系がもっとも有効であった。液体培養が確立した株についても、10%DMSO、20%serumを含むCGVS mediumの有用性を検討している。

[下河原理江子、八木田健司、泉山信司]

寄生動物部

5. 温水環境および水道水中の細菌叢の解析

循環式浴槽ではろ過層における微生物の繁殖が *Legionella* 属菌の発生と感染事故につながる。これまでの研究でろ過層では、細菌等微生物、微生物を捕食するアメーバ、アメーバに寄生する *Legionella* 属菌の順に発生していることが明らかとなっている。PCR-DGGE 法を用いて循環式浴槽での *Legionella* 属菌汚染に至る微生物相の変遷過程を解析した。その結果、微生物相は変化しつづけるものであること、炭素源によって微生物相に違いが生じることが示された。電気泳動で分離された個々のバンドの塩基配列決定、ならびに泳動マーカーの作成を行なった。

[泉山信司、関根 寛、縣 邦雄（アクアス）、福井 学（北海道大学低温科学研究所）、八木田健司]

6. 動物由来寄生虫症に関する調査研究

(1) 多包条虫の拡散と流行に関する調査研究

ア. 北海道移出犬の感染実態調査

北海道で流行する多包虫症の他都府県への侵入が強く懸念されている。我々はイヌを介した伝播に注目し、飼い主の観光や転居により北海道から移動する犬の多包条虫感染状況を調査した。2003年9月～2004年9月までの1年間で計183頭（北海道（A）群41頭、他都府県（B）群142頭）の検査を行い、糞便内抗原陽性2頭を発見した（A群1頭、B群1頭）。さらに12S rRNAを標的部位とした糞便内DNAの検出を試みたところ、後者は陽性を示し、その塩基配列は多包条虫北海道分離株と完全に一致した。前者は糞便内DNAは陰性であったが、飼い主より聴取した疫学的情報から多包条虫感染が強く示唆された。

[森嶋康之、杉山 広、荒川京子、川中正憲]

イ. 青森県における多包条虫流行調査

北海道以外の都府県で発生した多包虫症77例のうち青森県からの報告が約半数を占め、原発疑いの9症例が含まれる。また同県産豚にも感染が発見されている。しかし、終宿主動物での感染はいまだ未確認である。そこで2003年12月～2005年3月に同県内の終宿主候補動物由来の糞便（犬220検体、キツネ43検体）を採取して調査を行った。糞便内抗原検出法ではキツネ検体は全

例陰性であったが、イヌ検体1例が陽性を示し、試験的駆虫では抗原の陰転が確認された。しかし、排出が予想される虫体あるいは特異的DNAは濾便簡易沈殿およびPCR法のいずれの方法でも検出されず、抗原陽性を寄生虫学的に証明することはできなかった。

[森嶋康之、杉山 広、荒川京子、阿部幸一（青森県環境センター）、川中正憲]

(2) アライグマ回虫による幼虫移行症の発生予防と監視 ア. 動物展示施設におけるアライグマ回虫症の感染予防対策について

動物展示施設は、レクリエーションの場であると共に、教育、調査・研究、種の保存等といった大切な使命を担っており、今日の社会において欠かせない存在となっている。しかしながら、動物展示施設の特異性から、通常、ヒトと触れあうことのない野生動物等が飼育係等の従事者や来園者と直接的・間接的に接触する可能性がある。アライグマ回虫はヒトに感染すると致死的な神経障害を惹起しうるが、動物展示施設においてアライグマの本種寄生例が少なからず検出されている。これらの陽性動物展示施設に対して、一昨年度に策定した「アライグマに寄生するアライグマ回虫の検査等のガイドライン」に基づく検査と対策を継続している。

[川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之]

イ. 野生アライグマの糞便内虫卵検査

野生アライグマによるアライグマ回虫幼虫移行症の発生予防と監視の為に、捕獲個体の糞便内虫卵検査を継続実施している。検査には神奈川県についてはアライグマ駆除業者及び自治体から、また愛知県では開業獣医師から、直接送付された糞便を用いた。平成15年度の検査件数を県別に挙げると、神奈川県(112)、愛知県(7)であった。現在までのところ、これらの糞便からはアライグマ回虫卵は検出されていない。

[荒川京子、杉山 広、森嶋康之、川中正憲]

7. 食品由来寄生虫症に関する調査研究

(1) 在日外国人固有の食習慣に起因する肺吸虫症

最近8年間に感染研究寄生動物部へ検査依頼がなされた患者血清のうち抗体検査が陽性であったことから肺吸虫

寄生動物部

症が強く疑われたものは 76 例であった。このうち、在日外国人の検査陽性例は 23 例 (30%) にのぼる。出身国は、韓国 10 例、タイ 8 例、中国 4 例、ラオス 1 例であった。性別は女性が圧倒的多数で 20 例、男性は 3 例であった。集団感染はタイ人の 3 名と、韓国人 2 名の事例がある。担当医師によるコンサルテーションによれば、1 名を除いて 22 名については淡水カニの非加熱摂取歴があり、カニを媒介とした感染幼虫の摂取によって肺吸虫に感染したと考えられる。在日外国人が、出身地での食習慣をそのまま日本へ持ち込んだ結果として肺吸虫に感染したと推定される事例とともに、飲食をともにすることで日本人も肺吸虫に感染するケースも出ている。このような外来料理を介した肺吸虫感染の危険性について注意を喚起することが必要である。

[川中正憲、荒川京子、杉山 広、森嶋康之]

(2) 魚介類摂食後の食物アレルギーに關与するアニサキス症

ア. 原因虫種について

魚介類の摂食後に発症するアニサキスアレルギーの病態が、ヨーロッパと我が国とは大きく異なる。この違いが、病因となる虫体の系統分類学上の差異に起因しているのではないかと推察し、太平洋産 (日本・中国) と大西洋産 (米国・スペイン) のアンコウからアニサキス *Anisakis simplex* の幼虫を得て検討を加えた。各虫体から DNA を調整し、線虫類のリボゾーム DNA・ITS1 領域にコンセンサスなプライマーで PCR 増幅して、得られた産物の配列を解読した。その結果、増幅産物はいずれも 424bp で、日本産以外の配列は同一であった。日本産も他とわずかに 2 塩基相違したに過ぎず、僅かな種内の変異を検出したと考えた。更に詳細な検討を目的に、ミトコンドリア DNA・COI 領域の解読・解析を進めている。 [杉山 広、森嶋康之、川中正憲]

6. 首都圏における肺吸虫の発生分布に関する研究

(1) 荒川での大平肺吸虫セルカリアの検出

既に報告したように、東京都を流れる荒川のクロベンケイガニには、大平肺吸虫のメタセルカリアが高率に寄生している。荒川での本虫の生態を明らかにするため、カニでの寄生率が最も高い葛飾区四つ木地区で汽水産の

微小貝を採集し、本虫セルカリアの検出を試みた。その結果、ムシヤドリカワザンショウ 2,243 個のうち 4 個 (0.18%) から肺吸虫セルカリアが検出された。一方、カワザンショウガイ (140 個) は、総て陰性であった。得られた肺吸虫セルカリアは、形態学的特徴と ITS2 領域の遺伝子配列から、大平肺吸虫と確定した。中間宿主に関する情報が集まりつつあるので、ドブネズミを捕獲・検査するなど、終宿主についても検索を進める予定にしている。

[杉山 広、須藤幸喜、村田浩一 (日大)、森嶋康之、川中正憲]

(2) 多摩川での大平肺吸虫メタセルカリアの検出

東京湾に注ぐ河川において、汽水産カニの採集と肺吸虫メタセルカリアの検出を継続した結果、荒川に次いで、多摩川でも陽性地区を見出した。東京都大田区と神奈川県川崎市で採集した合計 842 匹のクロベンケイガニのうち、258 匹 (31%) が大平肺吸虫メタセルカリア陽性であった。寄生率は大田区東六郷地区が最も高く (98%)、陽性カニ 1 匹あたりの寄生数は南六郷地区が最も多かった (329 個)。カニからの大平肺吸虫メタセルカリアの検出は、神奈川県ではこれが初めての報告となる。

[杉山 広、須藤幸喜、村田浩一 (日大)、森嶋康之、川中正憲]

分類

1. 旋尾線虫 型幼虫の生活史と分類学的位置に関する研究

(1) 推定成虫の *Crassicauda giliakiana* の採集

ホタルイカの生食に起因する腸閉塞や皮膚爬行症の原因となる旋尾線虫 型幼虫 (以下、 型幼虫) は、その成虫が未知であり、生活史の全貌や分類学的位置が不明のままになっている。しかし、 型幼虫の *in vitro* での生存条件から、終宿主としては海鳥類或いは海産哺乳類が想定され (Hasegawa, 1978)、虫種としては鳥類寄生の頭飾線虫上科 (Hasegawa and Otsuru, 1982) 或いは海産哺乳類寄生のハプロネマ上科の *Crassicauda* 属 (Ando et al., 1992) である可能性が論じられてきた。我々は、 型幼虫の分布状況から深海において摂食行動をとる海産哺乳類を想定する事が妥当であると考え、ツ

チクジラの腎臓に寄生する *Crassicauda giliakiana* を型幼虫の成虫として想定し、函館、和田沖に出向いて本種虫体を採集した。

[森嶋康之、杉山 広、荒川京子、木白俊哉（遠水研）、川中正憲]

(2) PCR-RFLP による解析

ホタルイカに寄生する旋尾線虫 型幼虫（5 隻）とツチクジラの腎臓に成虫として寄生する *Crassicauda giliakiana*（5 隻）から個別にゲノム DNA を調整し、線虫のリボゾーム DNA・ITS1 領域に対するコンセンサスプライマーで、PCR 増幅させた。その結果、いずれのサンプルからも約 770bp の産物が得られた。この産物を 24 種類の制限酵素（6 塩基認識酵素）で処理したところ、いずれの産物も 4 種類の制限酵素（*NspI*、*PvuII*、*SacI*、*SphI*）で切断され、そのパターンが完全に一致した。他の酵素では切断されなかった。ITS2 領域をターゲットとした検討も行ったが、同様の結果が得られた。以上の成績から、ホタルイカに寄生する旋尾線虫 型幼虫とツチクジラの腎臓に成虫として寄生する *Crassicauda giliakiana* は、発育期の異なる同種の線虫であると考えられた。

[杉山 広、森嶋康之、荒川京子、木白俊哉（遠水研）、川中正憲]

(3) シーケンシングによる解析

旋尾線虫 型幼虫（5 隻）と *Crassicauda giliakiana* 成虫（5 隻）に由来する PCR 産物（ITS1 領域）をクローニングし、1 隻当たり 5 クローンずつを選択して配列を解読した（成虫、幼虫から各々 25 クローンずつ解読）。配列を相互に比較したところ、僅かな変異を示すクローンも認められたが、幼虫由来の 15 クローンが、成虫由来の 15 クローンと一致する事が分かった。ホタルイカ寄生の型幼虫とツチクジラ寄生の *Crassicauda giliakiana* 成虫は、発育期の異なる同種の線虫であるとの考えが、更に支持された。

[杉山 広、森嶋康之、荒川京子、木白俊哉（遠水研）、川中正憲]

2. 分子生物学的手法によるアライグマ回虫の同定と他

種回虫との鑑別

(1) マルチプレックス PCR による種鑑別

アライグマには、固有種であるアライグマ回虫 *Baylisascaris procyonis* 以外に、タヌキ回虫 *Toxocara tanuki* も寄生し、成熟・産卵する事がある。両種は共に幼虫移行症を引き起こす病原体であるが、前者の感染は時に致死性であることから、正確な種鑑別が極めて重要と考えられる。我々は既に、配列解読、PCR-RFLP、種特異的プライマー-PCR などの手法を検討し、両種の鑑別法として確立してきた。今回は、マルチプレックス PCR について検討した。まず両種の ITS2 領域の配列が異なる事を利用し、両種間で著差を認める部位を選び、PCR 増幅された時の産物サイズが異なるように工夫して、種に特異的なプライマーを新たに設計した。これらのプライマーに加えて、線虫類の ITS2 にコンセンサスなプライマーペアを同時に用い、PCR（マルチプレックス PCR）を行った。その結果、アライグマ回虫 DNA から約 400bp と約 500bp、タヌキ回虫 DNA から約 340bp と約 500bp の産物が増幅された。虫卵一個から調整した DNA でも同様の結果が得られた。一方、クマ回虫 *Baylisascaris transfuga* およびイヌ回虫 *Toxocara canis* から調整した DNA から、約 500bp のバンドのみが増幅された。以上の結果から、今回開発したマルチプレックス PCR は、回虫類である事を同定し（500bp）、その上でアライグマ回虫（400bp）とタヌキ回虫（340bp）とを鑑別する簡便なツールとなる事、虫卵を対象に実際に野外でも使用し得る事などが明らかとなった。

[杉山 広、畑 あい、村田浩一（日大）、森嶋康之、川中正憲]

3. 分子生物学的手法による肺吸虫種の同定・鑑別

(1) マルチプレックス PCR によるタイ産肺吸虫のメタセルカリアでの種鑑別

タイには 6 種類の肺吸虫が分布するが、ヒトへの感染が証明されているのは、ヒロクチ肺吸虫だけである。一方、タイ産のウェステルマン肺吸虫は、日本産のものとは異なり、人体への感染性がない。両種の ITS2 領域の配列が異なる事を利用し、両配列間で著差を認める部位に、PCR 増幅された時の産物サイズが異なるように工夫して、種に特異的なプライマーを設計した。これらのプ

寄生動物部

ライマーに加えて、吸虫類の ITS2 にコンセンサスなプライマーセットを同時に加え、PCR (マルチプレックス PCR) を行った。テンプレートには、タイで得た各種肺吸虫 (ヒロクチ、ウェステルマンの他に、ハリナスタ、タイの 4 種) のメタセルカリア由来 DNA を用いた。その結果、ヒロクチ肺吸虫では 310bp と 520bp、ウェステルマン肺吸虫では 140bp と 520bp、更にハリナスタ、タイの両肺吸虫では 520bp の産物が増幅された。今回開発したマルチプレックス PCR は、肺吸虫類であるかの同定 (520bp) と、ヒロクチ肺吸虫 (310bp) とウェステルマン肺吸虫 (140bp) との鑑別を同時に遂行するツールとして有用であることが分かった。タイでの人体寄生性肺吸虫 (症) の疫学調査に活用できると考えられた。[杉山 広、森嶋康之、川中正憲、亀岡洋祐 (基盤研)、アチャリア・ラングジルジ、パンシン・ケツダット (スリナカリンウイロート大学・タイ国)]

・生理・生化学・分子生物学

1. リスザルから検出された播種性ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* の遺伝子型

E. cuniculi はリボソーム RNA 遺伝子の ITS (internal transcribed spacer) 領域の塩基配列解析から genotype I、II、III の 3 型に分類される。今回、一飼育施設で斃死したリスザル 2 頭 (検体 No. 3077 及び No. 3072) の脳、肺、肝、脾、腎の *E. cuniculi* 遺伝子解析を行ったところ、検体 No. 3077 の検索した臓器のすべてから、また、検体 No. 3072 の脳から *E. cuniculi* の rRNA 遺伝子を検出した。ITS 領域によるタイピングでは、すべて 5'-GTTT-3' リピート数 4 個の III 型であることが判明した。これまで国外ではエンペラータマリン、ワタボウシタマリンに III 型感染が証明されている。今回の例は国内飼育下のリスザルで III 型 *E. cuniculi* 感染を初めて確認したもので、この型が本邦でもサル類に侵淫している可能性が示唆された。

[朝倉登喜子、中村進一 (麻布大学)、宇根有美 (麻布大学)、古屋宏二]

2. *Encephalitozoon cuniculi* スポアタンパク質のプロテオーム解析

モノクローナル及びポリクローナル特異抗体が認識す

る *E. cuniculi* スポアタンパク抗原のプロテオーム解析に基づく同定のため、*E. cuniculi* スポアタンパク質の 2-D PAGE 後の PVDF 膜に転写された主要なスポットについてプロテオーム解析を行う基礎的実験を試みた。メンブレン上の総タンパクを BODIPY FL-X/SE あるいは CBB で染色後目的のスポットを切り出し、N 末端アミノ酸配列解析及び LC-MS/MS 解析を行った。その結果、N 末端アミノ酸配列解析で PTP1 の 2 スポット、LC-MS/MS 解析で PTP2 + Aldose reductase (混合スポット)、Translation elongation factor 1 alpha、Spore wall protein1、Hypothetical protein、Zinc finger protein、HSP similarity to HSP、Heat shock related 70kDa protein、Phosphomannomutase、26S proteasome zeta chain の 9 スポットが同定された。

[小村麻子、三和 茂 (イムノバイオン)、古屋宏二]

3. *Naegleria fowleri* 総タンパク質のアミノ酸配列解析 2D-PAGE データベースの拡充を目指して

強い病原性を持つ *N. fowleri* について、これまでに 2D-PAGE 解析、N 末端アミノ酸配列解析並びに Western blot によるスポット解析を行い、得られた情報をもとに 2D-PAGE データベースを構築した。今年度はデータベース情報の拡充を目的に、クリーブランド法および LC-MS/MS によるタンパクスポット解析を試みた。クリーブランド法による中間アミノ酸配列解析では現在までに 11 個のスポットの中間配列情報が得られ、その内 3 個のスポットについては相同性検索により同定が可能となった。また、MS/MS 解析を行った 24 個のスポットの内 4 個が Mascot 検索により同定できた。現在も解析を進めている。

[小村麻子、八木田健司、泉山信司、下河原理江子、山河芳夫 (細胞化学)]

4. クリプトスポリジウム等消化管寄生性原虫類に関する研究

(1) 国内において分離されたヒト由来ジアルジアの遺伝子型別

アフリカ、東アジア、東南アジア諸国等からの帰国時健診、および一般健康診断等で検出されたヒト由来ジアルジア 14 試料の遺伝子型別を行い、Assemblage A (A1)

および Assemblage B (B3)を検出した。Assemblage A の 12 試料のうち 4 試料は渡航歴（インド、ラオスおよびビエンチャン、ウルグアイ、カナダ）をもち、他の 2 試料は国内感染と考えられた。カナダ渡航歴のある感染者は、キャンプ地での飲水を経験していた。国内感染と考えられる 2 例では感染源を推定させる情報は得られなかった。IDWR（感染研）の集計によればジアルジアの国内感染例は全体の 40%に達しており、国内感染を広める要因の解明が重要な課題と考えられた。

[八木田健司、田口一宏（三菱 BCL）、朝倉登喜子、泉山信司]

(2) 動物由来ジアルジアの遺伝子型別

国内東北地方の動物病院を受診した、あるいは繁殖施設で飼育されていたイヌ、動物病院を受診したネコ、牧場飼育のウシおよび野生ニホンザル由来のジアルジアの遺伝子型別を行った。イヌ由来 24 試料中、人畜共通性で国内のヒト感染例からも検出されている Assemblage A が 17 試料より検出されたこと、ならびにニホンザル由来の 3 試料が同様に人畜共通性の Assemblage B が検出されたことから、これらの動物のジアルジア(シスト)キャリアーとしての可能性が示唆された。なお、ネコ由来の 3 試料はネコ特異的な Assemblage F、またウシ由来の 5 試料中 1 試料が Assemblage A であったが、残り 4 試料はウシ特異的な Assemblage E であった。

[板垣 匡（岩手大、農）、八木田健司、泉山信司]

5. *Cyclospora cayatanensis* の紫外線抵抗性

耐塩素性微生物の *Cryptosporidium* ならびに *Giardia* は水道を介した大規模集団感染を引き起こすことから問題とされている。これまでの研究では紫外線は *Cryptosporidium* ならびに *Giardia* に対して効果的であることが複数の実験で示され、代替消毒法として特に簡易水道等の小規模な水道への利用に期待が寄せられている。*Cryptosporidium* に近縁の孢子虫類に属し、同じく環境抵抗性のオーシストを形成する *Cyclospora* は水系感染が海外で報告されており、*Cryptosporidium* 同様に紫外線を用いて不活化処理したい病原性微生物の 1 つと言える。スポロシスト形成を指標として紫外線の *Cyclospora* に対する不活化効果の検討を行なった結果、

2-log のスポロシスト形成の阻止には 10 mJ/cm² 程度の線量が必要であった。この線量は先に行なった *Giardia* シストでの実験に比べて 10 倍程度多く、原虫類は種によって紫外線耐性が異なり、紫外線消毒における照射線量の決定は慎重であるべきことを示唆する結果であった。
[泉山信司、八木田健司]

6. 原虫における含硫アミノ酸合成・分解経路の解析及び創薬

(1) 赤痢アメーバ含硫アミノ酸合成の調節機構

既に、デノボシステイン合成経路の上流のセリン代謝経路の主要な 2 酵素（グリセリン酸デヒドロゲナーゼ、フォスフォグリセリン酸デヒドロゲナーゼ）に関して十分な生化学解析を行っていたが、本研究では 3 つ目のフォスフォセリンアミノ転移酵素に関して、タンパク質及びコード遺伝子を決定するとともに、ネイティブ・組換え酵素をもちいて詳細な生化学的解析を行った。その結果、本原虫におけるセリン生合成リン酸化経路の重要酵素のほとんどが解明された。以上の研究により、赤痢アメーバが 2 種類のセリンの代謝経路を有することが明らかにされた。この重複性は赤痢アメーバの寄生適応におけるセリン代謝の重要性を強く示唆すると考えられる。この発見は他種生物で例がない重要な知見であると同時に、赤痢アメーバ症に対する新たな創薬標的を提供した。
[Vahab Ali、繁田泰男、野崎智義]

(2) システイン生合成経路の多様性

システイン生合成経路の多様性を理解することを目的として、中心的酵素であるシステインシンターゼとセリンアセチル転移酵素のアイソタイプの同定を行った。これまで赤痢アメーバからそれぞれ 2 種のシステインシンターゼ、1 種のセリンアセチル転移酵素のアイソタイプが知られていたが、今回ゲノム情報の開示に伴い新たに 1 種のシステインシンターゼ、2 種のセリンアセチル転移酵素が同定された。これらのタンパク質はこれまで同定されたアイソタイプと比較して 70–90% の同一性を有していた。これまでに大まかな生化学的・酵素学的解析が終了している。植物などではシステイン生合成経路は細胞質・ミトコンドリア・クロロプラストに独立して存在しており、システインシンターゼは既に植物では

寄生動物部

除草を目的とした標的酵素として注目されている。従って赤痢アメーバにおけるシステインシターゼも新たな抗赤痢アメーバ症薬剤を開発する上で重要な標的となると予想される。

[Vahab Ali, 橋本哲男(筑波大学)、繁田泰男、野崎智義]

(3) 赤痢アメーバ症の新規化学療法剤の創薬

赤痢アメーバに選択的に存在する含硫アミノ酸分解酵素メチオニンガンマリナーゼ(MGL)を標的としたプロドラッグであるトリフルオロメチオニン(TFM)の6種類の誘導体を作成し、そのうちの一部のインビトロ・インビボ試験が終了した。また、結晶構造に基づく合理的な創薬を可能とするために、大量合成系を確立すると共に、Spring8の熱源を用いて2.5Åの解像度で2種類のアイソザイムのうち1種類の組換え酵素の結晶回折像が得られた。

[佐藤 暖、繁田泰男、所 正治(金沢大)、小林正規(慶應大)、中野由美子、野崎智義]

7. 赤痢アメーバの貪食の分子機構の解明

(1) プロテオーム解析による貪食の網羅的解明

赤痢アメーバの貪食における分子機構を包括的に理解することを目的として、ファゴソームタンパク質の網羅的プロテオーム解析を行った。昨年度までに細胞表面レセプター、加水分解酵素、低分子量 GTP 結合タンパク質、細胞骨格タンパク質などが時間依存的に動員されることが明らかとなった。今年度は実験室株、大腸炎ならびに肝膿瘍からの臨床単離株からファゴソームタンパク質の継時的変動を観察した。その結果、新規のシステインプロテアーゼをはじめとして、未知の様々なタンパク質でファゴソームへの局在が変動していることが明らかとなった。

[岡田麻美、Chris Huston (University of Virginia)、Barbara Mann (University of Virginia)、野崎智義]

(2) 貪食・病原機構に関する Rab の機能解析

ア 貪食における *EhRab7* アイソタイプの機能解析

赤痢アメーバが貪食する際にファゴソームの酸性化が重要である。この酸性化のメカニズムを明らかにするために、リソソームの膜融合に関する *EhRab* を探索し

たところ、*Rab7* のアイソタイプの一つである *EhRab7B* であることが分かった。*EhRab7B* の大量発現によって肥大化したリソソームが観察され、さらに細胞あたりの酸性度も上昇させることが分かった。また *EhRab7B* の GTP 固定の変異型を発現させることにより、リソソームに蓄積するシステインプロテアーゼが細胞外に分泌されるのが観察された。以上のことから *EhRab7B* がリソソームホメオスタシスに関与することが考えられた。

[中野由美子、津久井久美子、岡田麻美、ぬで島麻衣、徳丸文恵、繁田泰男、野崎智義]

イ *EhRab7A* の結合タンパク質の解析

赤痢アメーバの主な病原因子として、特にシステインプロテアーゼ (CP) など加水分解酵素の輸送・放出及び外来性物質 (微生物・宿主細胞) に対する貪食能が挙げられる。システインプロテアーゼ (CP) の細胞内輸送経路の解明を目指すために赤血球貪食時の *EhRab7A* の動態を観察した。その結果、貪食直後のファゴソームには存在せず、後期と思われるファゴソームに局在した。また *EhRab7A* を高発現させた形質転換体では空胞の数、大きさが増大した。これは動物細胞と同様に *EhRab7A* が後期エンドソームからリソソーム・ファゴソームの成熟に関与すること、さらに後期エンドソームとリソソームまたはその他のコンパートメントとの膜融合を促進することを示唆した。またこの形質転換体で細胞内 CP の活性が約 50% 低下していた。以前我々は *EhRab7A* 結合分子としてリソソーム酵素の輸送に関与するレトロマー複合体の構成分子を同定した。よってこの CP 活性の低下は *EhRab7A* がレトロマーとの結合を介して病原因子である CP の輸送を制御しているためであると考えられる。

[津久井久美子、中野由美子、岡田麻美、徳丸文恵、繁田泰男、野崎智義]

ウ 貪食の分子機構の可視化

貪食の過程ならびにファゴソームの成熟過程の分子機構を詳細に明らかにするために、高感度・高解像度生細胞観察システムを用いて、生きた赤痢アメーバ細胞の貪食と貪食後の分解の過程をリアルタイムで解析した。その結果、貪食 2 分以内にファゴソームの酸性化が起こり、

この酸性化が貪食した物の分解に重要であることを発見した。また、酸性化と分解を止める幾つかの薬剤を発見した。さらに、弱毒株と病原株においては弱毒株の方が酸性化が早く進むことを発見した。これはあたかも強毒株ではリソソーム中の酵素が細胞外に分泌され、ファゴソームへの融合が起こっていないことを示唆していた。

[ビスワ ミトラ、津久井久美子、中野由美子、野崎智義]

エ 赤痢アメーバの小胞輸送遺伝子の多様性

赤痢アメーバは単細胞生物でありながら、その細胞内でオルガネラの機能を担っていると考えられる多くの小胞や小胞を持ち、それらの働きは不明な点が多い。そこで赤痢アメーバといくつかのモデル生物において、小胞輸送に関する遺伝子の数を比較し、赤痢アメーバにおける輸送系の特殊性を明らかにすることを試みた。小胞形成遺伝子において、赤痢アメーバは酵母や線虫ほどの単純さを有し、より高等なヒトや植物ほどの複雑さは持ち合わせていなかった。小胞融合のステップでは、SNARE の数は酵母や線虫と同レベルであったが、Rab はヒトの数以上がコードされていることが明らかになった。さらに 91 種の Rab のいくつかは、その機能に重要なドメインを欠失していた。これらの不完全な機能を持つと考えられた Rab が、単に遺伝子増幅を起こし、さらに偽遺伝子である可能性を否定するため、Rab の調節因子の一つである Rab GAP の数を比較した。その結果、ゲノム中の Rab の数が多いほど、Rab GAP の数が多いことが分かった。よって、赤痢アメーバの膜輸送経路では複雑な膜融合が起こっていることが予想された。

[中野由美子、ぬで島麻衣、野崎智義]

8. 赤痢アメーバの低分子量 GTP 結合タンパク質の脂質修飾酵素の同定と解析

赤痢アメーバの Rab の膜への局在に不可欠なカルボキシル末端部のイソプレニル化酵素をターゲットとした創薬を長期的目的としてグラニルグラニル転位酵素 II 型 (GGT-II) の同定と生化学的活性を解析した。大腸菌を用いて発現させた GGT-II は a, b サブユニットの 2 量体を形成し、この組み換え体の Rab escort protein 依存的な活性は赤痢アメーバの Rab5 を基質として³H]グラニルグラニルピロリン酸の取り込みによって確認した。

赤痢アメーバの GGT-II はラット GGT-II の活性と比較した場合、用いた赤痢アメーバの Rab の種類によって酵素活性に違いがあることが分かった。

[牧岡朝夫 (慈恵医科大学)、熊谷正広 (同)、中野由美子、野崎智義]

9. システインプロテアーゼ阻害タンパク質の機能

赤痢アメーバの病原因子の一つシステインプロテアーゼ (CP) はゲノムプロジェクトより約 30 の遺伝子があることが分かっているが、その中で 3 種類の CP (CP1, 2, 5) の発現量が高く、ライセート中の活性が 90% を占めることが分かっている。しかし細胞内での活性がどのように調節されているかは不明である。哺乳類細胞ではシスタチンと呼ばれるタンパク質が CP 活性を阻害するが、赤痢アメーバはシスタチン遺伝子を持たず、そのかわり Chagasin/ICP に類似した遺伝子を持つ。まず、赤痢アメーバ ICP の組み換えタンパク質を小麦胚芽の発現系で精製し、CP 阻害活性を検討したところ、CP の種類によって阻害選択制が確認された他、その阻害定数も nM から pM という非常に低い値を示した。細胞内局在を観察した結果、2 種あるうちの 1 つはリソソーム内の CP の活性制御に関与していると推測された。

[佐藤 暖、岡田麻美、繁田泰男、坪井敬文 (愛媛大学)、竹尾 暁 (同)、野崎智義]

10. 赤内型熱帯熱マラリア原虫 (*P. f.*) の増殖、分化を誘導する物質とその作用機序

(1) マラリア原虫の赤血球内増殖はマラリア発症に至る最も重要な発育サイクルで、この増殖に関与する因子を明らかにできれば創薬やワクチン開発に有用な標的分子の特定につながる。熱帯熱マラリア (*P. f.*) の *in vitro* 培養に不可欠とされるヒト血清の代わりに成牛血漿由来の細胞増殖因子を用いた無血清培地培養法について先に報告した。今回はさらにこの細胞増殖因子中の有効成分の特定とその増殖効果発揮のための条件を明らかにした。次いでこの細胞増殖因子由来有効成分とは異なるが、同様に *P. f.* 増殖効果を発揮し、しかも分子構造および細胞に対する作用が既知である物質について広範に探索した。その結果、一定の構造をもったリゾリン脂質によってヒト血清を用いた場合と同等の増殖が促される事が判明し

た。

[朝日博子]

(2) *P.f.* の増殖促進因子として特定された物質から細胞内シグナル伝達活性化がその増殖効果に関連する可能性が類推される事から、異なる増殖促進因子を含む培養液中での *P.f.* 増殖に与える各種のタンパクキナーゼ インヒビターの影響を試験した。その結果、いずれの増殖因子を含む培養液中でも *P.f.* 増殖は強く抑制され、この *P.f.* 増殖はタンパクキナーゼ活性化に依存する事が示唆された。しかし *P.f.* のタンパクキナーゼはその多くが非典型的な構造と機能を持つ事がよく知られており、用いたインヒビターの標的キナーゼを特定する事は出来なかった。

[朝日博子]

・免疫

1. マンソン住血吸虫 (*Schistosoma mansoni*) 虫卵由来 25 kDa T 細胞抗原の免疫学的特性

S. mansoni 感染マウスにおいてヘルパーT 細胞を特異的に刺激誘導する虫卵由来抗原分子として見い出された 25 kDa の成分(Sm-p25) はヒト好塩基球から IL-4 産生を誘導する IPSE と同一と考えられた。この事から 134 アミノ酸からなるレコンビナント蛋白 (rSm-p25) を作製し、CBA および C57BL/6 の二つの系統の感染、非感染マウスの腹腔内細胞、末梢血中の白血球に対する IL-4 産生誘導能について調べた。その結果、両系統マウスにおいて虫卵の総抽出物では強い IL-4 産生が検出されたのに対して、rSm-p25 では殆ど認められなかった。したがって、*S. mansoni* 感染にみられる Th2 誘導は Sm-p25 が主体となっているのではないと推測された。

[朝日博子、Stadecker, M.J.(タフツ大学)]

2. 日本住血吸虫由来 calpain 特異的 T T ハイブリドーマの樹立と T 細胞エピトープの決定

住血吸虫症のワクチン候補分子の1つとして成虫由来 calpain は特に強い Th1 応答を誘導して感染防御効果が高いことが報告されている。この事から日本住血吸虫 calpain に対する特異的 T-T ハイブリドーマを作り、overlapping oligopeptides を用いて 10mer からなる T

細胞エピトープを決定した。このエピトープを MAP として免疫した結果、脾臓細胞から強い IFN の産生が認められた。

[長田良雄(産業医科大学)、朝日博子]

・検査・診断

1.平成16年度・依頼血清の寄生虫抗体の検査

検査は通常、酵素抗体法 (DOT-ELISA) により実施した。抗原として、線虫類6種(日本顎口虫、犬回虫成熟虫卵、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫)、糸虫類3種(広節裂頭糸虫、マンソン孤虫、エキノコックス)、吸虫類4種(ウエステルマン肺吸虫、宮崎肺吸虫、肝蛭、日本住血吸虫)の13種類を用いた。酵素抗体法で得られた結果のみでは判断がつけがたい場合は、上記以外の抗原も含め、ウエスタンブロット法、ゲル内沈降反応、あるいはトキシカラ・キットを用いた酵素抗体法などをあわせて行った。本年度は29検体(29人)の検査を実施し、そのうち抗体陽性が9件、陰性が20件であった。陽性検体の内訳は、肺吸虫：3件、有鉤囊虫：1件、旋尾線虫：3件、マンソン孤虫：1件、トキシカラ：1件であった。

[荒川京子、杉山 広、森嶋康之、川中正憲]

2. ホタルイカの旋尾線虫 X 型幼虫：最近5年間の検出状況

ホタルイカの漁期は毎年3月から6月までで、この期間が基本的には旋尾線虫症発生のシーズンとなる。そこで最近5年にわたり、この期間に市販される生食用ホタルイカを対象として X 型幼虫保有状況を調査した。検査は、シーズンを通じて週1回の定期に実施し1回約100尾の生ホタルイカについて実施した。5年間のホタルイカの検査総数は3429尾で、これらから検出された X 型幼虫は147を数えた。ホタルイカ1個体の X 型幼虫保有数は概ね1であるので、平均検出率は4.3%となる。また、ホタルイカの解体を同一操作で同一検査者が実施した検査の結果について X 型幼虫の部位別検出状況を見ると、内臓部からは76%(45/59)、胴部(外套膜)からは14%(8/59)、頭腕部からは10%(6/59)という結果が得られた。これらの検査の結果から、旋尾線虫症の発生を完全に予防するためには、ホタルイカの凍結処理を確実に実施す

寄生動物部

ることが重要であることを示している。

[荒川京子、杉山広、森嶋康之、川中正憲]

3. マラリア原虫の lactate dehydrogenase 測定法を用いた感染、増殖測定法の応用と改良

マラリアのコントロールを目指すワクチン開発や新規薬剤開発、分離株の薬剤感受性試験等には、検鏡や Hypoxanthine の取り込みによる検出方法に替わる、簡便・迅速な感染率測定法が求められている。先に SYBR Green I を用いた Flow cytometry を適用し、少量の試料で固定の有無に拘わらず高感度で測定でき、標本の保存が可能な方法を確立した。今回はマラリア原虫の Lactate dehydrogenase を発色反応によって測定することによって感染、増殖を検出する方法を、薬剤効果試験及び増殖因子特定に試みた。その結果、測定結果は安定しており、検鏡法や Flow cytometric analysis よりも迅速でしかも同等の結果を得る事が出来た。また肉眼による確認試験も可能であった。しかし原法では少なくとも 0.2%以上の Parasitemia を必要とする事から、さらに感度をあげる処理法の検討、臨床材料や塗沫標本を利用できる条件の検討を試みた。

[朝日博子、泉山信司、高崎智彦(ウイルス1部)]

その他

1. 有機物汚染に着目した循環式浴槽の管理

浴槽水は濁度、有機物、大腸菌群、レジオネラ属菌の水質基準に従うが、循環式浴槽では濁度と有機物がろ過器での物理除去あるいは生物浄化作用により有機物が除去され、基準を達成している。しかし、循環式浴槽は閉鎖系であり有機物は微生物に形をかえて保存される。ここでは細菌類の増殖が宿主アメーバの増殖を支え、ひいては Legionella 属菌の発生、さらには Legionella 症の集団感染事故につながっていた。現在は塩素消毒を行なうことで循環式浴槽の安全の維持に努めている。本研究では有機物汚染に着目し、水泳プールの有機物汚染の指標である過マンガン酸カリウム消費量のシミュレーションを行ない、有機物汚染が単純なモデルを表すことが可能であること、並びに一人あたりの汚染負荷量が 0.5g 程度であることを明らかにした。ちなみに、現行の浴槽水の水質基準によると過マンガン酸カリウム消費量は

25mg/L が定められている。

[泉山信司、縣 邦雄(アクアス)、八木田健司]

2. クリプトスポリジウム症の潜伏期間

Cryptosporidium 症の潜伏期間は平均 7 日、2 日から 10 日の範囲とされてきたが、潜伏期間の精度向上は疫学調査に有益である。わが国におけるクリプトスポリジウム症の集団感染は限られているが、1994 年の平塚市雑居ビルでの水系感染、1996 年の越生町の町水道を介した感染、2002 年の兵庫県の高校生が北海道旅行で罹患した例より、単一暴露された感染者の情報を得て、潜伏期間をまとめた。Log-Logistic 分布を適用した結果、平均で 6 日、中間値が 6 日、患者の 95%が 4 日から 8 日までに発症していたことが明らかとなった。

[泉山信司、黒木俊郎(神奈川県衛生研究所)、辻 英高(兵庫県立健康環境科学研究センター)、八木田健司、古屋宏二]

3. クリプトスポリジウム集団感染と飲水行動の関係

1996 年の越生町の町水道を介したクリプトスポリジウム集団感染では、降雨による水道原水の濁度上昇に関連させて因果関係が説明されてきた。ところがアンケート調査によると、濁度上昇の以前から多数の下痢症の発生が認められている。本研究では濁度と患者の発生状況を詳細に検討し、両者の間に相関が認められないことを示した。その一方、水道水における軽度の汚染が持続していたことを前提として、住民の飲水行動の変化、すなわち飲水量が増加することにより集団感染が顕在化した可能性を示唆する結果が得られた。気象庁の記録によれば、集団感染に前後して気温の変化が著しく、最高気温が移動平均で 20 前後から 25 を超える時期へと変化していた。気温のプロットを潜伏期間の 6 日分間移動させて流行曲線に重ねると、最高気温が 25 を超えた時期と発症者が拡大した時期と符合した。気温の上昇に伴って生水の摂取が増加すれば暴露の機会の増大をきたすことは十分に推測されるところである。

[泉山信司、八木田健司]

レファレンス業務

1) 衛生微生物技術協議会レファレンスセンター会議

寄生動物部

第 25 回衛生微生物技術協議会において寄生虫に関するレファレンスセンター会議を行った。赤痢アメーバの国内感染状況を解説し、その検査体制の整備を進めることが急用であることを指摘した。これに関連して感染研より PCR 検査に必要な陽性コントロール DNA およびプライマーの供与が可能であることを通知した。

[八木田健司、泉山信司]

2) 原虫類のリファレンス活動

感染研および外部共同研究機関（医療機関、地方衛生研究所等）の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。本年度は赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウム、サイクロスポラおよびアカンソアメーバの試料が保存された。

[八木田健司、泉山信司]

1. 対策ガイドライン、検査指針の作成

(1) 対策指針「犬のエキノコックス症対策ガイドライン」

平成 16 年 10 月 1 日の、獣医師による犬エキノコックス症の届け出義務化に伴って、対策指針の策定を行う事が必要となった。このようなときに「北海道移出犬の感染実態調査」と「青森県における多包条虫流行調査」に関連した実践と経験が、北海道外への移動犬対策の指針を策定する上での実際的な根拠を与えるものとなり、その作成に全面的な協力をを行った。本ガイドラインは「動物由来寄生虫症の流行地拡大防止対策に関する研究」班の報告書として、平成 16 年 12 月に、全国の関係方面へ向けて配布された。

[川中正憲、森嶋康之、荒川京子、杉山 広]

(2) 「食品衛生検査指針」の作成

平成 9 年 9 月に厚生省生活衛生局食品保健・乳肉衛生課の通知により、食品媒介の寄生虫疾患対策が強化され、次いで平成 11 年 12 月には食品衛生法施行規則の一部改正により食中毒事件票にクリプトスポリジウム等の腸管寄生性原虫類およびアニサキス等の寄生蠕虫類が加えられた。これを受けて『食品衛生検査指針』の改版が行

われ、原虫類および蠕虫類に係る検査法の改定が行われた。

[遠藤卓郎、八木田健司、川中正憲、杉山 広]

国際協力関係業務

1. JICA 下痢症対策プロジェクト寄生虫学短期専門家派遣

派遣期間：2004 年 11 月 21 日から 28 日まで

派遣場所：インド・コルカタの国立コレラ・腸管感染症研究所

派遣内容：下痢症起因病原体の一つであるクリプトスポリジウム原虫の遺伝子診断に関わる技術指導。

・フィリピンとの 2 国間共同研究において、フィリピンにおける下痢疾患関連の消化管寄生性原虫類（赤痢アメーバ、クリプトスポリジウム、ジアルジア等）のサーベランスを行った。フィリピンの共同研究者を招き、検査法の実習もあわせて行った。

[古屋宏二]

・タイとの 2 国間共同研究において、タイにおける養殖魚類のアメーバ感染症に関する調査研究を行った。共同研究者を招きアメーバの分離法、分子疫学的調査方法に関する実習もあわせて行った。

[Thitiporn Laoprasert, 八木田健司、泉山信司]

1. 中国南部における元住血吸虫症流行地の寄生虫性疾患に関する疫学的研究：肝吸虫症の疫学的調査

昨年度に引き続き、ヒューマンサイエンス振興財団による外国の研究機関の委託事業として、中国南部における元住血吸虫症流行地の寄生虫性疾患に関する疫学的調査を実施した。中国広西壮族自治区（省）において 3 カ所の調査区を設定し、特に肝吸虫症に関する人々の意識を探るべくアンケート調査を重点的に行った。

[余森海（中国 CDC）、川中正憲]

研修業務

・平成 16 年度稀少感染症診断技術研修会にて、赤痢アメーバ症の検査法に関する研修を行った。

・平成 16 年度特別課程ウイルスコース原虫実習（国立保健医療科学院主催）にて、赤痢アメーバ ELISA 検査

法の実習を行った。

・平成 16 年度水道クリプトスポリジウム試験法実習(国立保健医療科学院主催) にて、水道源水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の実習を行った。

・水道における耐塩素性微生物検査法に関する研修会(厚生労働省主催) にて、検査法の実習を行った。

・レジオネラ宿主アメーバ等に関する実習にて、地方衛生研究所 (鹿児島県、神奈川県、沖縄県) に対して宿主アメーバ 類の検査法の実習を行った。

[八木田健司、泉山信司]

発表業績一覧

・誌上発表

1. 欧文発表

1. Izumi, T., Itoh, Y., Yagita, K., Endo, T. and Ohyama, T., Brackish Water Benthic Shellfish (*Corbicula Japonica*) as a Biological Indicator for *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Ricer Water. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 72 : 29-37, 2004.

2. Rangsiruji, A., Sugiyama, H., Morishima, Y., Kawanaka, M., Binchai, S. and Ketudat, P. : Genetic diversity of lung flukes in central and southern Thailand. J. Sci. Res. Chulalongkorn Univ. 3, 195-206, 2004.

3. Sugiyama, H., Morishima, Y., Rangsiruji, A., Binchai, S., Ketudat, P., Kameoka, Y. and Kawanaka, M. : Molecular discrimination between individual metacercariae of *Paragonimus heterotremus* and *P. westermani* occurring in Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 36 (Suppl. 3), 102-106, 2005.

4. Asato, R., Taira, K., Nakamura, M., Kudaka, J., Itokazu, K., Kawanaka, M. Changing Epidemiology of Angiostrongyliasis Cantonensis in Okinawa Prefecture, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases 57, 184-186, 2004.

5. Morishima Y, Sugiyama H, Arakawa K & Kawanaka M. Intestinal helminths of dogs in northern Japan. Veterinary Record (in press).

6. Morishima Y, Sugiyama H, Arakawa K, Ohno J, Waguri A, Abe K & Kawanaka M. A coprologic survey on the potential definitive hosts of *Echinococcus multilocularis* in Aomori Prefecture, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases (58,

327-328, 2005).

7. Ali, V., Shigeta, Y., Tokumoto, U., Takahashi, Y., and Nozaki, T. (2004) An intestinal parasitic protist *Entamoeba histolytica* possesses a non-redundant NIF-like system for iron-sulfur cluster assembly under anaerobic conditions. J. Biol. Chem. 279, 16863-16874.

8. Ali, V., Shigeta, Y., Hashimoto, T., and Nozaki, T. (2004) Molecular and biochemical characterization of D-phosphoglycerate dehydrogenase from *Entamoeba histolytica*: a unique enteric protozoan parasite that possesses both phosphorylated and non-phosphorylated serine metabolic pathways. Eur. J. Biochem. 271, 2670-2681.

9. Saito-Nakano Y, Yasuda T, Nakada-Tsukui K, Leippe M, Nozaki T. (2004) Rab5-associated vacuoles play a unique role in phagocytosis of the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. J. Biol. Chem. 279, 49497-49507.

10. Loftus, B., Anderson, I., Davies, R., Alismark, U. C. M., Samuelson, J., Amedeo, P., Roncaglia, P., Berriman, M., Hirt, R. P., Mann, B. J., Nozaki, T., Suh, B., Pop, M., Duchene, M., Ackers, J., Tannich, E., Leippe, M., Hofer, M., Bruchhaus, I., Willhoeft, U., Bhattacharya, A., Chillingworth, T., Churcher, C., Hance, Z., Harris, B., Harris, d., Jagels, K., Moule, S., Mungall, K., Ormond, D., Squares, R., Whitehead, S., Guillen, N., Gilchrist, C., Stroup, S. E., Bhattacharya, S., Lohia, A., Foster, P. G., Sicheritz-Ponten, T., Weber, C., Singh, U., Mukherjee, C., Petri, W. A. J., Clark, C. G., Embley, T. M., Barrell, B., Fraser, C. M., and Hall, N. (2005). The genome of the protist parasite *Entamoeba histolytica*. Nature 433, 865-868.

11. Beck, D.L., Boettner, D., Dragulev, B., Ready, L., Mackey, A.J., Nozaki, T., Pearson, W.R., and Petri, Jr., W.A. (2005) Identification and gene expression analysis of a large family of transmembrane kinases related to the Gal/GalNAc lectin in *Entamoeba histolytica*. Eukaryot. Cell 4, 722-732.

12. Okada, M., Huston, C. D., Mann, B. J., Petri, Jr., W. A., Kita, K., and Nozaki, T. (2005) Proteomic analysis of phagocytosis in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Eukaryot. Cell 4, 827-831.

13. Williams, D., Asahi, H., Oke, T.T., Lopes da Rosa, J. and Stadecker, M.J. Murine immune responses to a novel

寄生動物部

schistosome egg antigen, SmEP25. International Journal for Parasitology, 35:875-882 (2005).

14. Osada, Y., Kumagai, T., Hato, M., Suzuki, T., El-Malky, M., Asahi, H., Tamotsu Kanazawa, T. and Ohta, N. Establishment of *Schistosoma japonicum* calpain-specific mouse T cell hybridomas and identification of a T cell epitope that stimulates IFN γ production. Vaccine 23:2813-2819 (2005).

15. Asahi, H., Kanazawa, T., Hirayama, N. and Kajihara Y. Investigating serum factors promoting erythrocytic growth of *Plasmodium falciparum*. Experimental Parasitology 109:7-15 (2005).

16. Stadecker, M.J., Asahi, H., Finger E., Hernandez, H.J. Rutitzky, L.I. and Sun, J. The immunobiology of Th1 polarization in high pathology schistosomiasis. Immunological Reviews 201:168-179 (2004).

2.和文発表

1. 古屋宏二、川中正憲、山野公明 1、佐藤直樹、本間 寛。北海道の多包性エキノコックス症患者血清の使用によるイムノブロット法を用いた市販エキノコックス症血清診断キットの検討。感染症学雑誌。78(4)、320 - 326、2004。

2. 古屋宏二、朝倉登喜子、中村進一 1、宇根有美 1 リスザルから検出された播種性ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* の遺伝子型 獣医寄生虫学会誌、3 巻、2 号、49、2005。

3. 古屋宏二。エキノコックス症、動物の感染 子どもにうつる動物の病気(神山、高山編著) 真興交易医書出版 171 - 173、2005。

4. 古屋宏二。エンセファリトゾーン症 子どもにうつる動物の病気(神山、高山編著) 真興交易医書出版 174 - 179、2005。

5. 遠藤卓郎 八木田健司 食品衛生検査指針微生物編「寄生虫 - 原虫類」、厚生労働省監修、(社)日本食品衛生協会 pp519-534,2004。

6. 遠藤卓郎、泉山信司。「病原微生物対策への理解に向けて」 Safe Drinking-Water:for the Control of Microbial Hazards. 用水と廃水 46(7) 平成 16 年 7 月

7. 遠藤卓郎、黒木俊郎、泉山信司。 <話題の感染症> ジアルジア症 モダンメディア 50(4) 平成 16 年 4 月

8. 遠藤卓郎、八木田健司、泉山信司。クリプトスポリジウム症 Medical Science Digest 31(1)平成 17 年 1 月

9. 杉山 広、森嶋康之、坂本京子、川中正憲、亀岡洋祐、堀川禎夫、西山秀樹：喀痰から虫卵が検出され形態と塩基配列から種同定したウエステルマン肺吸虫症の 1 例、Clinical Parasitol、15、37-39、2004。

10. 杉山 広：寄生虫 食品衛生指導員ハンドブック 日本食品衛生協会 pp216-227、2004。

11. 杉山 広：顎口虫症。共通感染症ハンドブック 日本獣医師会 pp121-113、2004。

12. 杉山 広：肺吸虫症。共通感染症ハンドブック 日本獣医師会 pp186-187、2004。

13. 赤尾信明、安藤勝彦、中村(内山)ふくみ、川中正憲、ホタルイカ生食による旋尾線虫幼虫移行症の発生動向 1995～2003、病原微生物検出情報、Vol.25, No5, 3-4、2004

14. 荒川京子、森嶋康之、杉山広、川中正憲、ホタルイカの旋尾線虫 X 型幼虫：最近の検出状況、病原微生物検出情報、Vol.25, No5, 4-5、2004

15. 川中正憲、荒川京子、森嶋康之、杉山広、在日外国人固有の食習慣に起因する肺吸虫症、病原微生物検出情報、Vol.25, No5, 8-9、2004

16. 川中正憲、杉山 広：寄生蠕虫類、食品衛生検査指針 日本食品衛生協会 pp535-563、2004

17. 野崎智義 (2004) 寄生虫・原虫で起こる感染症(アメーバ赤痢、マラリア、トキソプラズマ症、ジアルジア症、カラアザール、クリプトスポリジウム症、ニューモシスチス・カリニ肺炎) in 家庭医学大全科 法研、pp2756-2763。

.学会発表

1. 国際学会

1. Sugiyama, H., Morishima, Y., Rangsiruji, A., Binchai, S., Ketudat, P., Kameoka, Y. and Kawanaka, M. : Molecular discrimination between individual metacercariae of *Paragonimus heterotremus* and *P. westermani* occurring in Thailand. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2004, Bangkok, 29 Nov.-1 Dec. 2004.

寄生動物部

2. Nozaki, T. (2004) Pathway for prostaglandin biosynthesis in *Leishmania*: A potential target for new prophylactic and chemotactic strategies. Meeting on *Leishmania* Exo-antigens diagnosis, treatment, and vaccine development. Supported by USA Medical Research Unit and Kenya Medical Research Institute, June 1-4, 2004, Mombasa, Kenya
 3. Nozaki, T. (2004) Iron-sulfur cluster formation in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*: unique non-redundant nitrogen fixation (NIF)-like system in the anaerobic parasite. The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Aug 30-Sept 2, 2004, Awaji, Japan.
 4. Ali, V. and Nozaki, T. (2004) Serine metabolic pathways in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Aug 30-Sept 2, 2004, Awaji, Japan.
 5. Nozaki, T. (2004) *Entamoeba histolytica* phagosome proteome “Genomics and Biology of the Amicochondriates” Set 18-19, 2004, Woods Hole.
 6. Ali, V., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. (2004) Roles of the Iron-sulfur cluster formation in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*: Functional characterization of non-redundant nitrogen fixation (NIF)-like system in the anaerobic parasite. The XVth Molecular Parasitology Meeting, Sept 19-23, 2004, Woods Hole, U.S.A.
 7. Beck, D. L., Ready, K., Dragulev, B., Mackery, A., Nozaki, T., Fox, J., Pearson, W., Petri, Jr., W. A. (2004) Expression analysis of a large family of *Entamoeba histolytica* transmembrane kinase proteins with homology to giardia variant surface proteins. The XVth Molecular Parasitology Meeting, Sept 19-23, 2004, Woods Hole, U.S.A.
 8. Nakada-Tsukui, K., Ali, V., Saito-Nakano, Y., and Nozaki, T. (2004) *Entamoeba histolytica* Rab7A regulates the transport of a virulence factor cysteine protease via a specific interaction with the retromer-like complex. The XVth Molecular Parasitology Meeting, Sept 19-23, 2004, Woods Hole, U.S.A.
 9. Nozaki, T., Nakada-Tsukui, K., Mitra, B. N., Okada, M., Saito-Nakano, Y., Huston, C. D., Mann, B. J., and Petri, Jr., W. A. (2004) Vesicular trafficking in phagocytosis of *Entamoeba histolytica*. EMBO Workshop on Pathogenesis of Amoebiasis: From Genomics to Disease, Nov 16-20, 2004, Ein Gedi, Israel.
 10. Ali, V. and Nozaki, T. Biochemical and functional analysis of serine metabolisms in *Entamoeba histolytica*. EMBO Workshop on Pathogenesis of Amoebiasis: From Genomics to Disease, Nov 16-20, 2004, Ein Gedi, Israel.
 11. Okada, M., Huson, C. D., Mann, B. J., Petri, Jr., W. A., Kita, K., and Nozaki, T. (2004) Proteomic analysis of phagosome biogenesis: Comparison of phagosome protein profiles between virulent and avirulent *Entamoeba histolytica* strains. The 39th Joint Conference on Parasitic Diseases. The Japan-United States Cooperative Medical Science Program, Dec 7-10, 2004, Kyoto.
 12. Nakada-Tsukui, K., Ali, V., Saito-Nakano, Y., Okada, M., and Nozaki, T. (2004) Rab7A small GTPase regulates the transport of cytolytic cysteine protease via a specific interaction with the retromer-like complex in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* strains. The 39th Joint Conference on Parasitic Diseases. The Japan-United States Cooperative Medical Science Program, Dec 7-10, 2004, Kyoto.
2. 国内学会
 1. 古屋宏二. サル類における播種性ミクロスポリジア *Encephalitozoon cuniculi* 感染の血清疫学的解析、平成16年度京都大学霊長類研究所共同利用研究会“サル類疾患の生態学”、名古屋 平成17年1月22日.
 2. 八木田健司、下河原理江子、朝倉登喜子、泉山信司、黒木俊郎、遠藤卓郎. 国内温水環境における病原性 *Naegleria* 属アメーバの実態、第37回日本原生動物学会.
 3. 黒木俊郎、泉山信司、八木田健司、宇根有美、鳥羽道久、遠藤卓郎、爬虫類における *Cryptosporidium* の保有状況、第37回日本原生動物学会.
 4. 小村麻子、八木田健司、泉山信司、下河原理江子、遠藤卓郎、*Naegleria fowleri* 総タンパク質のアミノ酸配列解析 - 2D-PAGE データベースの拡充を目指して、第37回日本原生動物学会.
 5. 八木田健司、下河原理江子、朝倉登喜子、泉山信司、黒木俊郎、遠藤卓郎、国内温水環境における高温耐性アメーバ類、特に病原性 *Naegleria* 属アメーバの実態に関

寄生動物部

する調査結果、第 74 回 日本寄生虫学会大会。

6. 吉田邦仁子、八木田健司、上田晃弘、田沼順子、矢崎博久、本多美和子、瀧永博之、源河いくみ、照屋勝治、立川夏夫、菊池 嘉、遠藤卓郎、岡 慎一、木村 哲、クリプトスポリジウム症を呈した AIDS 症例の検討、第 78 回日本感染症学会総会。

7. 倉 文明、前川純子、八木田健司、遠藤卓郎、池野まり子、辻 英高、田口真澄、小林一寛、渡辺治雄、客船に関連したレジオネラ症の集団発生における感染源の分子疫学、第 78 回日本感染症学会総会。

8. 本多美和子、八木田健司、上田晃弘、吉田邦仁子、矢崎博久、田沼順子、瀧永博之、源河いくみ、立川夏夫、照屋勝治、菊池 嘉、遠藤卓郎、岡 慎一、木村 哲、海外渡航歴のない男性に発症したランブル鞭毛虫症 2 例の報告、第 78 回日本感染症学会総会。

9. 黒木俊郎、泉山信司、八木田健司、宇根有美、鳥羽道久、遠藤卓郎。 爬虫類における *Cryptosporidium* の保有状況 日本原生動物学会 平成 16 年 11 月

10. 泉山信司、八木田健司、遠藤卓郎、藤原正弘。 *Giardia* の紫外線消毒における付着濁質の影響 環境技術学会 平成 16 年 9 月

11. 泉山信司、八木田健司、下河原理江子、朝倉登喜子、遠藤卓郎。 温水環境より分離した *Naegleria* 属アメーバの遺伝子型別。 日本寄生虫学会 平成 16 年 4 月

12. 森嶋康之・荒川京子・杉山 広・川中正憲、北海道から移動するイヌの多包条虫感染実態調査。第 73 回日本寄生虫学会大会 (2004 年 4 月)

13. 川中正憲、荒川京子、杉山広、森嶋康之。動物展示施設におけるアライグマ回虫症の感染予防対策について、第 73 回日本寄生虫学会大会 (2004 年 4 月)。

14. 森嶋康之、荒川京子、杉山 広、川中正憲、大野譲治、阿部幸一：青森県における飼育犬およびキツネの多包条虫感染調査、第 64 回日本寄生虫学会東日本支部大会、2004 年 10 月、東京。

15. 川中正憲、荒川京子、森嶋康之、杉山 広、安里龍二、平良勝也：沖縄県における広東住血線虫症の血清疫学的調査、第 64 回日本寄生虫学会東日本支部大会、2004 年 10 月、東京。

16. 杉山 広、森嶋康之、荒川京子、川中正憲：東京のクロベンケイガニから検出した大平肺吸虫：メタセルカ

リア寄生率の季節消長、第 137 回日本獣医学会学術集会 2004 年 4 月、藤沢

17. 杉山 広、森嶋康之、坂本京子、川中正憲、亀岡洋祐、堀川禎夫、西山秀樹：喀痰から虫卵が検出され形態と塩基配列から種同定したウェステルマン肺吸虫症の 1 例、第 15 回日本臨床寄生虫学会大会 2004 年 6 月、東京

18. 杉山 広、森嶋康之、アチャリア・ラングシルジ、スーチーワン・ピンチャイ、パンシン・ケツダット、亀岡洋祐、川中正憲：分子生物学的手法による肺吸虫の種鑑別・同定：タイ産肺吸虫メタセルカリアを用いての検討、第 139 回日本獣医学会学術集会 2005 年 3 月、和光

19. 座本 綾、田口文広、福士秀悦、森川 茂、杉山 広、田原口元子、山田靖子：フェレットの ACE2 同定と SARS-CoV レセプターとしての機能、第 139 回日本獣医学会学術集会 2005 年 3 月、和光

20. Vahab Ali, 繁田泰男, 徳本梅千代, 高橋康弘, 野崎智義 (2004) Fe-S cluster assembly in the parasitic protist *Entamoeba histolytica* under anaerobic conditions. 第 73 回日本寄生虫学会大会 2004 年 4 月 3-4 日、前橋

21. 中野由美子, 岡田麻美, 津久井久美子, めで島麻衣, 徳丸文恵, 野崎智義 (2004) 赤痢アメーバのファゴソーム成熟過程における EhRab7 アイソタイプの解析 第 73 回日本寄生虫学会大会 2004 年 4 月 3-4 日、前橋

22. 津久井久美子, 中野由美子, 岡田麻美, 繁田泰男, 野崎智義 (2004) 赤痢アメーバ Rab7 結合分子 第 73 回日本寄生虫学会大会 2004 年 4 月 3-4 日、前橋

23. 牧岡朝夫, 熊谷正広, 渡辺直熙, 竹内 勤, 野崎智義 (2004) 赤痢アメーバのグラニルグラニル転移酵素 I 型の解析 第 73 回日本寄生虫学会大会 2004 年 4 月 3-4 日、前橋

24. Saito-Nakano, Y., Okada, M., Nakada-Tsukui, K., Mitra, B. N., Nudeshima, M., Tokumaru, F., Shigeta, Y., and Nozaki, T. (2004) Roles of EhRab7 isotypes on phagocytosis in *Entamoeba histolytica*. 第 57 回日本細胞生物学会大会 2004 年 5 月 26-28 日、大阪

25. 岡田麻美, Christopher D. Huson, Barbara J. Mann, William A. Petri, Jr., 北潔, 野崎智義 (2004) 赤痢アメ

- ーバにおけるファゴソームタンパク質の株間の比較 第
12 回分子寄生虫ワークショップ、2004 年 8 月 1-4 日、
蓼科
26. 津久井久美子、中野由美子、岡田麻美、野崎智義
(2004) 赤痢アメーバ Rab7A と細胞内 pH の制御 第 12
回分子寄生虫ワークショップ、2004 年 8 月 1-4 日、蓼科
27. 野崎智義 (2004) 腸管寄生性原虫赤痢アメーバの病
原機構解明のためのゲノミクスおよびプロテオミクスア
プローチ 第 12 回分子寄生虫ワークショップ、2004 年
8 月 1-4 日、蓼科
28. 所 正治、小林正規、井関基弘、野崎智義 (2004) 赤
痢アメーバにおけるメチオニン代謝の解析第 12 回分子
寄生虫ワークショップ、2004 年 8 月 1-4 日、蓼科
29. 佐藤 暖、岡田麻美、繁田泰男、竹尾 暁、坪井敬文、
野崎智義 (2004) 赤痢アメーバシステインプロテアーゼ
及びシステインプロテアーゼ様分子の発現と解析 第
77 回日本生化学会大会 Oct 13-16, 2004, 横浜
30. 熊谷正広、牧岡朝夫、竹内 勤、野崎智義 (2004) 赤
痢アメーバのゲラニルゲラニル転移酵素 I 型の解析 第
45 回日本熱帯医学会大会、Oct15-16、東京
31. 中野由美子、津久井久美子、岡田麻美、ぬで島麻衣、
徳丸文恵、繁田泰男、野崎智義 (2004) EhRab7B は赤痢
アメーバの病原因子システインプロテアーゼの細胞内輸
送に関与する 第 64 回日本寄生虫学会東日本支部大会・
第 3 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会
Oct 30-31, 2004.
32. 野崎智義 (2004) 腸管寄生性原虫赤痢アメーバの病
原機構解明のためのプロテオミクス及びポストプロテオ
ミクスアプローチ ワークショップ 第 27 回日本分子生
物学会年会 Dec 8-12, 2004, 神戸
33. 津久井久美子、中野由美子、Vahab Ali、岡田麻美、
徳丸文恵、野崎智義 (2004) 腸管寄生原虫赤痢アメーバ
Rab7A の機能解析第 27 回日本分子生物学会年会 Dec
8-12, 2004, 神戸
34. 朝日博子. 熱帯熱マラリア原虫の増殖を誘導する
物質とその作様機序 第 63 回日本寄生虫学会 東日本
支部大会、2004 年 4 月